

Полученные в ходе данной работы результаты могут быть применены в разработке метода мониторинга состояния пациента во время лучевой терапии для корректировки лечения.

В дальнейшем планируется аналитическая работа по выявлению взаимосвязи между данными морфологии эритроцитов, общего состояния пациента и других показателей, а также взаимосвязи этих данных с состоянием пациента через определенные промежутки времени после терапии (например, через полгода, год и т.д.).

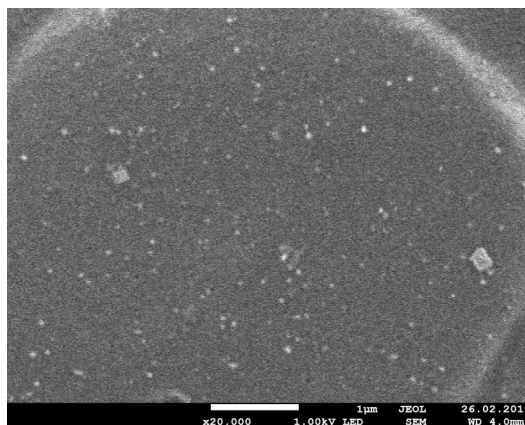


Рис. 1. СЭМ-изображение поверхности эритроцита пациента с раком шейки матки на кремниевой подложке при увеличении $\times 20\,000$

Литература

1. Maksimov, G.V., Mamaeva, S.N., Antonov et al. Measuring Erythrocyte Morphology by Electron Microscopy to Diagnose Hematuria //Measurement Techniques. June 2016. Volume 59 (3). P. 327-330.
2. S.N. Mamaeva, G.V. Maksimov, E.P. Neustroev, Y.A. Munkhalova, S.R. Antonov, and A.N. Pavlov, (2018), "Use of Nanocomposite Material Based on Graphene Oxide and Silver Nanoparticles in Research of Blood Erythrocytes in Various Diseases" in The 2nd International Symposium on Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine, KnE Energy & Physics, pages 212–222. DOI 10.18502/ken.v3i2.1815

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ХРАНЕНИЯ КЛЕТОК КРОВИ НА ИХ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ С ТЕЧЕНИЕМ ВРЕМЕНИ

Топчу К.Д.¹, Пономарчук Е.М.¹, Кунтурова А.В.¹,
Хохлова В.А.¹, Буравков С.В.²

¹МГУ им. М.В. Ломоносова, физический факультет,
²факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия
E-mail: topchu.kd17@physics.msu.ru

На сегодняшний день ведётся множество исследований, направленных на изучение свойств и характеристик крови. Ряд экспериментов связан с изучением генома человека, «перепрограммированием» клеток крови, с помощью которого совершается переход клетки из одного типа в другой, и открытием антител, помогающих в борьбе с онкологическими заболеваниями. Другим примером являются исследования, направленные на изучение процесса активации свертывания крови с целью предотвращения тромбоза, а также её хранения для последующего переливания [1]. Интерес представляют исследования, проводимые не только в жидком, но и в коагулированном состоянии. Одним из таких примеров в области медицинской акустики является неинвазивное разрушение внутренних гематом фокусированным ультразвуком высокой интенсивности [2].

С целью проведения регулярных экспериментов на жидкой или коагулированной крови, необходим выбор наиболее щадящего (т.е. не изменяющего первоначальные свойства) способа хранения цельной крови или непосредственно ее сгустков. Целью данной работы являлась разработка такого метода и оценка допустимого времени хранения клеток крови путем цитологического анализа изменения морфологических характеристик цельной человеческой крови под действием антикоагулянта, а также путем ультраструктурного анализа влияния различных способов хранения непосредственно сгустков свиной крови: в физиологическом растворе, в 6% геле из агары и в 10% полиакриламидном геле (ПАА). Исследование полученных образцов проводилось на световом микроскопе Zeiss Axio Imager на базе факультета фундаментальной медицины МГУ, а также с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL JSM-6380LA Analytical Scanning Electron Microscope на базе биологического факультета МГУ.

Изменение морфологических характеристик клеток цельной крови при хранении с антикоагулянтом. С помощью световой микроскопии исследовалось влияние антикоагулянта цитрат фосфат декстрозы (ЦФД) на морфологические характеристики клеток цельной крови в течение 7-9 дней в присутствии и без добавления консервационного раствора САГМ.

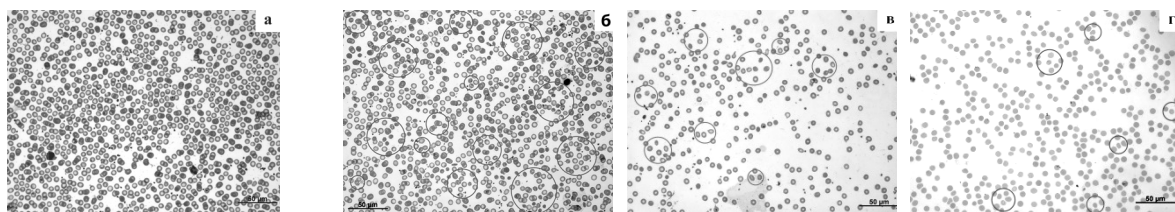


Рис. 1. Снимки цельной крови с добавлением антикоагулянта ЦФД: а) 0 дней; б) 5 дней; в) 5 дней с добавлением САГМ; г) 9 дней с добавлением САГМ. Эхиноциты выделены окружностями.

Хранение крови в ЦФД. На Рис. 1а представлен обзорный снимок контрольного образца в ЦФД, где все пространство заполнено эритроцитами в присутствии небольшого количества клеток лейкоцитарного ряда и тромбоцитов. Из Рис. 1(б, в) можно видеть, что уже спустя 5 суток наблюдаются значительные отличия при хранении цельной крови с отсутствием и с добавлением САГМ: без добавления раствора примерно 30-40% эритроцитов дискоцитарной формы видоизменяются (становятся эхиноцитами, Рис. 1б), что гораздо больше, чем с добавлением САГМ (Рис. 1в). При увеличении срока хранения цельной крови с добавлением САГМ до 9 дней (Рис. 1г) количество эхиноцитов меняется несущественно.

Изменение свойств гематомы в зависимости от способа ее хранения с течением времени. В качестве другого способа подготовки крови к дальнейшему исследованию ее в виде сгустка было предложено хранение уже коагулированной крови в физиологическом растворе или же в прозрачных гелевых контейнерах. С помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) анализировалось влияние трех вышеупомянутых различных методов хранения гематом в течение двух суток после взятия крови. На Рис. 2а представлен контрольный снимок содержимого сгустка крови.

Хранение в полиакриламидном геле (ПАА). При хранении гематомы в ПАА изменения формы эритроцитов наблюдаются уже спустя сутки после погружения в гель (Рис. 2б): она становится более округлой, клетки выглядят «набухшими», количество видимых фибриновых волокон, связывающих клетки в сгусток, увеличилось.

Хранение в физиологическом растворе. На Рис.2в представлен снимок содержимого гематомы, хранящейся в физиологическом растворе. В течение двух суток при данном способе хранения значительных изменений не наблюдалось, за исключением небольшого уменьшения видимой части фибриновых волокон.

Хранение в геле из агары. Из Рис. 2г видно, что в течение двух суток хранение сгустков свиной крови в агаре существенно не повлияло на состояние гематомы: коли-

чество фибриновых волокон не изменилось, форма клеток и плотность их распределения остались прежними.

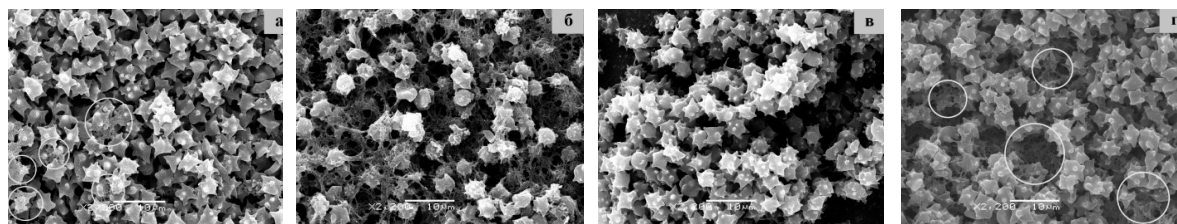


Рис. 2.. Снимки СЭМ содержимого гематом с течением времени в зависимости от способа хранения: а) в день погружения; б) спустя сутки в ПАА; в) спустя 2 суток в физиологическом растворе; г) спустя 2 суток в агаре. Фибриновые нити выделены окружностями.

Таким образом, проведенный в данной работе цитологический анализ изменения морфологических характеристик клеток цельной крови под действием антикоагулянта показал, что добавление к антикоагулянту консервационного раствора САГМ продлевает допустимое время хранения цельной крови до девяти суток за счет обеспечения ее необходимыми питательными компонентами для поддержания обмена веществ и стабилизации клеток. Также с помощью результатов СЭМ можно сделать вывод о том, что гель из агара является наиболее подходящим контейнером для хранения гематом в течение по крайней мере двух суток, так как не оказывает токсического действия и таким образом сохраняет их первоначальные свойства.

Литература

1. Пантелеев М. А., и др. Свертывание крови: современные проблемы (часть 3) // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. 2008.
2. Khokhlova T.D., et al. Histotripsy liquefaction of large hematomas // Ultrasound in Med. & Biol. 2016. 42, 7, 1491-1498.

ПОВЕРХНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ, ОЦЕНЕННАЯ МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ У МУЖЧИНЫ УМЕРШЕГО ОТ ПЕРЕОХЛАЖДЕНИЯ

Трифонова Л.А., Гоголева Т.Е., Лебедева Т.М.

Северо-Восточный Федеральный университет, Физико-технический институт, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия
E-mail: lucu_morgan97@mail.ru

В современных условиях освоения Арктики проблема переохлаждения и гипотермии организма у человека и животных приобретает фундаментальный и прикладной характер [1]. В структуре всех причин смерти от травм, отравлений (класс XIX) и внешних причин (класс XX) удельный вес случаев смерти от общего переохлаждения составляет в среднем 10%, т.е. каждый год в Республике Саха (Якутия) от общего переохлаждения погибает в среднем 200 чел. [1]. В медицине проблемы гипотермии и «оживления» организма остаются открытыми. В настоящее время в доступной нам литературе отсутствуют данные исследования клеток крови умерших от переохлаждения методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Цель исследования – оценить особенности поверхности эритроцитов умершего человека от переохлаждения методом АСМ.

В данной работе использовался АСМ – сканирующий зондовый микроскоп SolverNext фирмы NT-MDT. Сканирование проводилось в полу-контактном режиме со следующими характеристиками работы: области сканирования 50x50 мкм (512 точек),